

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2005-147990

(43)Date of publication of application : 09.06.2005

(51)Int.Cl.

G01N 27/327

G01N 27/26

G01N 27/416

(21)Application number : 2003-389128

(71)Applicant : MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD

(22)Date of filing : 19.11.2003

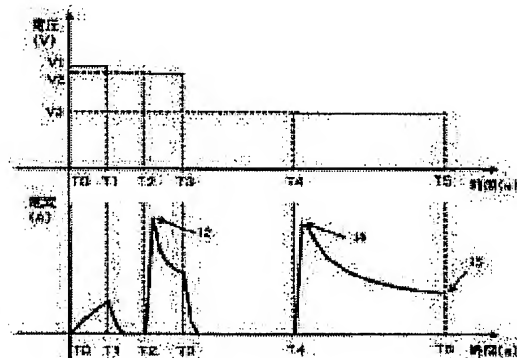
(72)Inventor : YAMANISHI ERIKO  
TOKUNAGA HIROYUKI

## (54) METHOD FOR MEASURING SUBSTRATE CONCENTRATION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a measuring method in order to reduce measurement errors due to Hct of blood, in the case of quantitatively determining a substrate included in the blood.

SOLUTION: The measuring method includes a voltage applying step (T0-T1) for preprocessing the blood; a voltage applying step (T2-T3) for compensating data; and a voltage applying step (T4-T5) for oxidizing a generated reduced electron carrier after a certain period of time. A parameter depending on hematocrit is calculated, based on a ratio of a peak current value (i2) which is obtained in the voltage applying step for compensating, to a peak current value (i4) which is obtained in the voltage applying step for oxidizing the generated reduced electron carrier after the certain period of time, and the amount of substrate is compensated by using the parameter.



**\* NOTICES \***

JP0 and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

**CLAIMS**

---

[Claim(s)]

[Claim 1]

A biosensor which has at least a reagent layer containing an enzyme and an electron carrier on polar zone containing a counter-electrode on an insulating substrate formed in part at least, and a measuring electrode, and the polar zone concerned, or on the outskirts.

A contact button and a driving source for impressing potential to each electrode of the polar zone concerned.

It is a measuring method of substrate concentration provided with the above, and 3 times or more of intermittent voltage impressing processes are included.

[Claim 2]

A measuring method of the substrate concentration according to claim 1 including a voltage impressing process for said intermittent voltage impressing process to oxidize a reduction type electron carrier generated at least after a voltage impressing process for a voltage impressing process for blood pretreatment, and data correction, and fixed time lapse.

[Claim 3]

In said voltage impressing process, after a voltage impressing process for blood pretreatment, A measuring method of the substrate concentration according to claim 2, wherein a voltage impressing process for data correction is carried out and a voltage impressing process for oxidizing a reduction type electron carrier generated after fixed time lapse after a voltage impressing process for the data correction concerned is carried out.

[Claim 4]

A peak current value acquired from a voltage impressing process for said data correction, A measuring method of the substrate concentration according to claim 2 to 3 computing a parameter for which it depended on a hematocrit based on a ratio with a peak current value acquired from a voltage impressing process for oxidizing a reduction type electron carrier generated after said fixed time lapse, and amending the amount of substrates with said parameter.

[Claim 5]

A measuring method of the substrate concentration according to claim 4 amending a hematocrit using a discriminant function which makes said parameter a discriminial coefficient.

[Claim 6]

A measuring method of the substrate concentration according to claim 1 to 5, wherein impressed electromotive force in a voltage impressing process for a voltage impressing process for said blood pretreatment and data correction is larger than impressed electromotive force in a voltage impressing process for oxidizing a reduction type electron carrier generated after fixed time lapse.

[Claim 7]

A measuring method of the substrate concentration according to claim 1 to 6, wherein voltage applying time in a voltage impressing process for said blood pretreatment is 0.2 second – 2 seconds.

[Claim 8]

A measuring method of the substrate concentration according to claim 1 to 7, wherein open circuit time in front of a voltage impressing process for said data correction is 0.2 second – 1 second.

[Claim 9]

A measuring method of the substrate concentration according to claim 1 to 8, wherein voltage applying time in a voltage impressing process for said data correction is 0.2 second – 2 seconds.

[Claim 10]

A measuring method of the substrate concentration according to claim 1 to 9, wherein open circuit time in front of a voltage impressing process for oxidizing a reduction type electron carrier generated after said fixed time lapse is 1 second – 6 seconds.

---

[Translation done.]

\* NOTICES \*

JP0 and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

DETAILED DESCRIPTION

---

[Detailed Description of the Invention]

[Field of the Invention]

[0001]

Since the substrate contained in blood is quantified, this invention relates to the measuring method using the measuring device with which it is equipped with a biosensor and this biosensor.

The new determination method for decreasing the error of measurement especially by the hematocrit in blood is provided.

[Background of the Invention]

[0002]

A biosensor is a sensor to which the molecular recognition ability of living thing materials, such as a microorganism, an enzyme, an antibody, DNA, and RNA, was used for, and living thing material was applied as a molecule identifying element and which quantifies the substrate content in a sample solution. That is, the substrate contained in a sample solution using the reaction which occurs when living thing material has recognized the target substrate, for example, consumption of oxygen by breathing of a microorganism, an enzyme reaction, luminescence, etc. is quantified. And utilization of the enzyme sensor is progressing also in various biosensors, for example, glucose, lactic acid, cholesterol, and the enzyme sensor that is biosensors for amino acid are used for medical instrumentation or food stuff industry. This enzyme sensor carries out the quantitative analysis of a sample, when an electron carrier is returned and a measuring device measures the amount of reduction of that electron carrier electrochemically with the electron generated by the reaction of a substrate, an enzyme, etc. which are contained in the sample solution which is a sample, for example.

[0003]

The thing of various forms about the measuring method using such a biosensor is proposed. Then, the conventional measuring method is explained. (For example, refer to patent documents 1.) In order to quantify the substrate content in a sample solution, where fixed voltage is impressed to the electrode of the biosensor mentioned later by a measuring device after inserting a biosensor in a measuring device, a sample solution is supplied to a sample spotting part. The spotted sample solution is attracted inside a biosensor and the dissolution of a reagent layer starts. A measuring device detects the electrical variation produced in inter-electrode [ of a biosensor ], and starts fixed-quantity operation.

[0004]

The profile after sample solution supply detection is shown in drawing 5. It becomes this profile from three continuation periods, and becomes [ time /  $t_0$  ] it from the 1st applied period of  $t_1$ , the standby time of the time  $t_1$  to  $t_2$ , and the 2nd applied period of the time  $t_2$  to  $t_3$ , for example. The error of measurement by a hematocrit can be controlled by providing this 1st applied period.

[0005]

The measuring method of the biosensor which amends error influence and asks for the concentration of an analysis target subject is explained. (For example, refer to patent documents 2.) The voltage provided in the biosensor is impressed twice, electrochemical reaction is promoted, the following parameters P1 and P2 are computed from the current value acquired as a result, and analysis target subject concentration is computed by amending an error with a statistical method from these parameters. The ratio ( $I_f/I_b$ ) of the maximum of the current in P 1:1st excitation, or the current value ( $I_f$ ) after the maximum and the current value at the arbitrary times of the 2nd excitation ( $I_b$ ). The current value at the arbitrary times of P 2:2nd excitation ( $I_b$ ).

[Patent documents 1] JP,2003-156469,A

[Patent documents 2] International publication pamphlet 99/60391

[Description of the Invention]

[Problem to be solved by the invention]

[0006]

However, there was a problem that the hematocrit of blood affected sensitometry in the conventional measuring method. A hematocrit is a volume ratio (%) of the physical component occupied in blood. In those who do not generally have ischemia, red corpuscles occupy 40 to 50%. When it becomes chronic renal failure and becomes renal anemia, a hematocrit may be in the state where fall and it is less than 15%, and individual difference and its difference between men and women are also large.

[0007]

On the other hand, shortening of measuring time is desired as spec. required of a biosensor in recent years. When measuring a substrate promptly using a biosensor, the viscosity of a sample has big influence on the accuracy of measurement. viscosity is high when using blood of a human body as a sample solution especially (: with high Hct -- hereafter) When it is the blood with low (: with low Hct the following, low Hct) viscosity in which a response level falls relatively in the case of high Hct blood, a response level becomes high relatively, and this tendency may become remarkable as shortening of measuring time progresses. This phenomenon suggests that the solubility to the blood of a reagent layer and the diffusion rate of a dissolved kind are influenced by Hct.

[0008]

Drawing 6 is a figure showing the relation between measuring time and a hematocrit. This is the result of measuring according to the measurement technique of the patent documents 1 shown by drawing 5. Measuring time is  $t_3$  shown by drawing 5, and the current value in  $t_3$  when it measures using the blood of low Hct and high Hct is plotted, respectively. When measuring time becomes short so that clearly from drawing 6, it turns out that the difference of the current value by the difference in a hematocrit becomes large. When measuring time is about 5 seconds, it is especially greatly influenced by a hematocrit. For the reason, the error of measurement by a hematocrit became remarkable, and it was dramatically difficult to perform time reduction by the measuring method of the patent documents 1.

[0009]

The conventional measuring method shown in the patent documents 2 is used as a parameter which receives more greatly influence according a ratio of the maximum of current in the 1st excitation, or a current value after the maximum to a current value at the arbitrary times of the 2nd excitation to sample physical properties. Since the 1st excitation is a stage in early stages of the dissolution, solubility to blood of a reagent layer and a diffusion rate of a dissolved kind become rate-limiting, and a current value depending on a hematocrit is easy to be acquired, but a current value varies easily according to a speed of supply of blood, and a difference of technique. Being easy to be detected as a current value in the case of the 1st excitation of an easy-oxidizability substance furthermore contained in blood, a current value of the 1st excitation tends to produce an error according to individual difference of an easy-oxidizability substance in blood. In order to use current after the maximum of current of the 1st excitation, or the maximum for amendment, a certain amount of applying time is required. However, since an excessive quantity of reducing electron carriers will oxidize if potential is applied in an initial stage (1st excitation) for a long time, if standby time is lengthened and a reducing electron carrier is not accumulated again, the anchorage dependency of a response value detected in a 2nd excitation period may worsen. It was dramatically difficult to perform measurement which stopped dispersion by a measuring method of the patent documents 2 for the reason, and to perform shortening of measuring time.

[Means for solving problem]

[0010]

In order to solve said conventional problem, the measuring method of the substrate concentration of this invention, The biosensor which has at least a reagent layer containing an enzyme and an electron carrier on the polar zone containing the counter-electrode on an insulating substrate formed in part at least, and a measuring electrode, and the polar zone concerned, or on the outskirts, The current which makes impress potential to said polar zone, and is outputted to it by the driving source concerned is detected using the measuring device which has the contact button and driving source for impressing potential to each electrode of the polar zone concerned, it is a measuring method which quantifies the substrate contained in blood, and 3 times or more of intermittent voltage impressing processes are included.

[0011]

Said intermittent voltage impressing process may include the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated at least after the voltage impressing process for the voltage impressing process for blood pretreatment, and data correction, and fixed time lapse.

[0012]

In said voltage impressing process, the voltage impressing process for data correction may be carried out after the voltage impressing process for blood pretreatment, and the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after fixed time lapse after the voltage impressing process for the data correction concerned may be carried out.

[0013]

The peak current value acquired from the voltage impressing process for said data correction, The parameter for which it depended on the hematocrit based on the ratio with the peak current value acquired from the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after said fixed time lapse may be computed, and said parameter may amend the amount of substrates.

[0014]

A hematocrit may be amended using the discriminant function which makes said parameter a discriminant coefficient.

[0015]

It is good also as a measuring method, wherein the impressed electromotive force in the voltage impressing process for the voltage impressing process for said blood pretreatment and data correction is larger than the impressed electromotive force in the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after fixed time lapse.

[0016]

It is good also as a measuring method, wherein the voltage applying time in the voltage impressing process for said blood pretreatment is 0.2 second – 2 seconds.

[0017]

It is good also as a measuring method, wherein the open circuit time in front of the voltage impressing process for said data correction is 0.2 second – 1 second.

[0018]

It is good also as a measuring method, wherein the voltage applying time in the voltage impressing process for said data correction is 0.2 second – 2 seconds.

[0019]

It is good also as a measuring method, wherein the open circuit time in front of the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after said fixed time lapse is 1 second – 6 seconds.

[Effect of the Invention]

[0020]

The biosensor which has at least a reagent layer containing an enzyme and an electron carrier on the polar zone which contains the counter-electrode on an insulating substrate formed in part at least, and a measuring electrode according to the measuring method of the substrate concentration of this invention, and the polar zone concerned, or on the outskirts, The measuring device which has the contact button and driving source for impressing potential to each electrode of the polar zone concerned is used, The current which makes impress potential to said polar zone, and is outputted to it by the driving source concerned is detected, Are the substrate contained in blood a measuring method to quantify, and The voltage impressing process for blood pretreatment, The peak current value which included the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after the voltage impressing process for data correction, and fixed time lapse, and was acquired from the voltage impressing process for said amendment, The parameter for which it depended on the hematocrit based on the ratio with the peak current value acquired from the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after said fixed time lapse can be computed, and the good measuring method of the accuracy of measurement can be provided by amending the amount of substrates with said parameter.

[Best Mode of Carrying Out the Invention]

[0021]

Below, the embodiment of the measuring method of the substrate concentration of this invention is described in detail with Drawings.

[0022]

(Embodiment 1)

Drawing 1 shows the profile figure of the measuring method of the substrate concentration in the 1st working example of this invention.

[0023]

Time which detected that blood was supplied is set to T0 in the profile in drawing 1. In the profile of drawing 1, consist of five processes and T1 from T0 The 1st process (voltage impressing process for blood pretreatment), Let [ T1 to T2 / T2 to the 2nd process (open circuit) and T3 ] the 4th process (open circuit) and T4 to T5 be the 5th process (voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after fixed time lapse) for T4 from the 3rd process (voltage impressing process for data correction), and T3.

[0024]

In the 1st process for blood pretreatment, the easy-oxidizability substance contained in blood oxidizes at the 1st process that is the first voltage impressing process at the same time the reduction type electron carrier generated in the stage in early stages of the dissolution as a result of the enzyme reaction oxidizes.

[0025]

Next, by making the 2nd process into an open circuit, the reduction type electron carrier generated by the enzyme reaction is accumulated.

[0026]

In the 3rd process for data correction, a reduction type electron carrier cannot fully be accumulated, but peak current  $i_2$  becomes the value greatly influenced by the hematocrit, so that it becomes the blood of high Hct especially, since impression is started without fully giving the open circuit time of the 2nd process.

[0027]

In this invention, the influence of the speed of supply of blood and the reducing substance in dispersion by the difference of the technique or blood can be removed by establishing the 1st process as blood pretreatment in addition to the 3rd process used for data correction, and the parameter influenced by the hematocrit is obtained at the 3rd process. It becomes possible simultaneously to obtain the last response value which made the influence of the easy-oxidizability substance in blood reduce by existence of this 1st process.

[0028]

Next, an open circuit is again used at the 4th process, and a reduction type electron carrier is accumulated again. At this time, also in the blood of high Hct, the reduction type electron carrier of quantity is enough accumulated because beyond fixed time takes time.

[0029]

The peak current  $i_4$  acquired when the potential V3 is impressed at the 5th process serves as a value with seemingly small influence of a hematocrit. The current value of  $i_5$  which shows a current value with the highest dependency with substrate concentration after that is measured. Let these  $i_5$  be the last response value. And in order to reduce the influence which it has on the last response value of a hematocrit, using  $i_2$  which asked at the 3rd process for data correction, the parameter of  $i_4-i_2$  is computed and the amendment beforehand decided to be the response value  $i_5$  based on this parameter is added.

[0030]

Although the open circuit time T1-T2 in front of the voltage impressing process for data correction changes in this measuring method with capability of the enzyme to be used, 1 second is preferred from 0.2 second. Although the time T2 - T3 of a voltage impressing process for the time T0-T1 of the voltage impressing process for blood pretreatment and data correction change with capability of the enzyme to be used, 2 seconds is preferred from 0.2 second. It is preferred that the impressed electromotive force in the voltage impressing process for the voltage impressing process for said blood pretreatment and data correction is larger than the impressed electromotive force in the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after fixed time lapse. As for the voltage V2, 0.1V-0.8V are preferred. As for the open circuit time in front of the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after fixed time lapse, it is preferred that they are 1 second - 6 seconds.

[0031]

Voltage impressing for data correction is performed several times, and accuracy improves further by using for amendment two or more current values acquired by the voltage impressing for several data correction. The voltage in that case may impress different voltage.

[0032]

A hematocrit may be amended using the discriminant function which makes a discriminant coefficient the current value which may be a voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after the voltage impressing process for said data correction, and fixed time lapse by a method as shown in the above-mentioned patent documents 2.

[0033]

If the value greatly influenced by the hematocrit at the voltage impressing process for data correction is obtained, even if it will use the current value of which point, it is possible, but it is preferred to use the peak current out of which the influence tends to come notably, in order to perform little amendment with error.

[Work example 1]

[0034]

The more concrete embodiment of this invention is described in detail with Drawings. The biosensor which consists of the following composition was used as an example of a sensor.

[0035]

Drawing 2 (a) is an exploded perspective view of a biosensor, and drawing 2 (b) is a figure showing the composition of the polar zone seen from the upper surface of the biosensor. 19 is an insulating substrate (it is hereafter considered as a "substrate".) which consists of polyethylene terephthalate etc., and the conductor layer which consists of palladium is formed in the surface of the substrate 19 of sputtering. 26 is the insulating substrate with which the vent 27 was formed in the center section, is crowded on both sides of the spacer 24 which has the notch 25 between the substrates 19, and is arranged at the substrate 19 and one.

[0036]

On the substrate 19, of two or more slits, a conductor layer is divided and the counter-electrode 21, the measuring electrode 20, and the detection pole 22 are formed.

[0037]

The spacer 24 is arranged so that the counter-electrode 21, the measuring electrode 20, and the detecting electrode 22 on the substrate 19 may be covered, and the sample supply route 25a is formed. The reagent which contains the glucose dehydrogenase as an enzyme and contains potassium ferricyanide etc. as an electron carrier is applied, and the reagent layer 23 is made to form on the counter-electrode 21, the measuring electrode 20, and the detecting electrode 22 which have been exposed from the notch 25 of the spacer 24.

[0038]

The reagent layer in which this enzyme and electron carrier are contained dissolves in the blood attracted in the sample supply route, an enzyme reaction advances between glucose which is a substrate in blood, an electron carrier is returned, and a reduction type electron carrier is generated. This reduction type electron carrier is oxidized electrochemically, and the glucose concentration in blood is measured from the current value acquired at this time. Such a series of reactions read the current value accompanying electrochemical change with the counter-electrode 21, the measuring electrode 20, and the detecting electrode 22.

[0039]

Drawing 3 is the parameter which Hct computed in this measuring method using 25% (low Hct), 45%, and 65% (high Hct) of blood. The 1st process (voltage impressing for blood pretreatment) by 0.5V impression 0.5 second, the 2nd process (open circuit) -- for 0.5 second, the 3rd process (impression for data correction) will be 0.5 second by 0.5V impression, the 4th process (open circuit) will be 1.5 seconds, and the 5th process (voltage impressing for oxidizing the reduction type electron carrier generated after fixed time lapse) has become 2 seconds by 0.2V impression. And  $i_4/i_2$  which measured and computed the current value  $i_4$  of 0.1 second after from the voltage impressing start at current value  $i_2$  of 0.1 second after and the 5th process become a parameter of drawing 3 from a voltage impressing start at the 3rd process. From a voltage impressing start at the 5th process, a horizontal axis is the last response value  $i_5$  of 2 seconds after, and a vertical axis is  $i_4/i_2$ . In the blood of low substrate concentration of low Hct, the blood of high substrate concentration of high Hct, and  $i_5$ , the difficult point of distinguishing a hematocrit value is that the same current value may be acquired. By using the parameter of drawing 5, even when  $i_5$  shows the same current value, it is clear that it can classify for every hematocrit.

[0040]

Correction value over each numerical value of a parameter obtained by drawing 3 is shown in the following table 1.

[0041]



[Table 1]

| パラメータ : $Z = i4 / i2$ | 補正值  |
|-----------------------|------|
| $Z < 0.75$            | 0.8  |
| $0.75 \leq Z < 0.8$   | 0.9  |
| $0.8 \leq Z < 0.95$   | 1.0  |
| $0.95 \leq Z < 1.0$   | 1.1  |
| $1.0 \leq Z$          | 1.35 |

[0042]

According to this table, correction value is applied to the last response value i5.

[0043]

Drawing 4 is a figure showing influence of a hematocrit at the time of measuring using the measurement technique of this invention, and the conventional technique. As for the conventional measuring method, a case where shortened 0.5V and total measuring time for 1 second is shortened [standby time] for 0.2V as the 2nd impression for 2 seconds for 2 seconds at 5 seconds is indicated to be a case where it is [whose total measuring time for 3 seconds is 6 seconds about 6 seconds and standby time as the 1st impression] 15 seconds about 0.2V as the 2nd impression in 0.5V as the 1st impression. When the conventional measuring method performs time reduction from 15 seconds at 5 seconds, a standard compares Hct25% of low Hct blood Hct45%, its measurement result is relatively high, and Hct65% of high Hct blood becomes low relatively.

[0044]

Although total measuring time is equal by using this measuring method, it becomes possible to reduce the variation in a hematocrit.

[Industrial applicability]

[0045]

The biosensor which has at least a reagent layer containing an enzyme and an electron carrier on the polar zone in which the measuring method of the biosensor concerning this invention contains the counter-electrode on an insulating substrate formed in part at least, and a measuring electrode, and the polar zone concerned, or on the outskirts, The measuring device which has the contact button and driving source for impressing potential to each electrode of the polar zone concerned is used, The current which makes impress potential to said polar zone, and is outputted to it by the driving source concerned is detected, Are the substrate contained in blood a measuring method to quantify, and The voltage impressing process for blood pretreatment, The peak current value which included the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after the voltage impressing process for data correction, and fixed time lapse, and was acquired from the voltage impressing process for said amendment, By computing the parameter for which it depended on the hematocrit based on the ratio with the peak current value acquired from the voltage impressing process for oxidizing the reduction type electron carrier generated after said fixed time lapse, and amending the amount of substrates with said parameter. It is useful as a good measuring method etc. of the accuracy of measurement of the biosensor which quantifies the substrate concentration contained in blood.

[Brief Description of the Drawings]

[0046]

[Drawing 1] The figure showing the profile of the measuring method of this invention

[Drawing 2] The exploded perspective view of the biosensor in connection with this invention

[Drawing 3] The figure showing the relation of the parameter and sensitometry which were computed more in the measuring method of this invention

[Drawing 4] The figure showing the influence of Hct at the time of measuring using the measuring method of this invention, and the conventional technique

[Drawing 5] The figure showing the profile of the conventional measuring method

[Drawing 6] The figure showing the relation between Hct, measuring time, and sensitometry

[Explanations of letters or numerals]

[0047]

1 t0 Time when the blood in the conventional measuring method was supplied

2 t1 Time when the 1st applied period in the conventional measuring method expires at, and an open circuit is started

3 t2 Time when the 2nd applied period in the conventional measuring method is started

4 t3 Time to read a current value as a last response value in the conventional measuring method

5 v1 Voltage of the 1st applied period in the conventional measuring method

6 v2 Voltage of the 2nd applied period in the conventional measuring method

7 T0 Time when the blood in the measuring method of this invention was supplied

8 T1 The voltage impressing process for blood pretreatment in the measuring method of this invention is completed.

Time

9 T2 A voltage impressing process for data correction in a measuring method of this invention begins.

Time

10 T3 A voltage impressing process for data correction in a measuring method of this invention is completed.

Time

11 T4 Time for a voltage impressing process for oxidizing to start a reduction type electron carrier generated after fixed time lapse in a measuring method of this invention

12 T5 Time to read a current value as a last response value in a measuring method of this invention

13 V1 Impressed electromotive force for blood pretreatment in a measuring method of this invention

14 V2 Impressed electromotive force for data correction in a measuring method of this invention

15 V3 A reduction type electron carrier generated after fixed time lapse in a measuring method of this invention

Impressed electromotive force for oxidizing

16 i2 It may be a voltage impressing process for blood pretreatment in a measuring method of this invention.

Peak current

17 i4 A reduction type electron carrier generated after fixed time lapse in a measuring method of this invention

Peak current which may be a voltage impressing process for oxidizing

18 i5 The last response value in a measuring method of this invention

19 An insulating substrate

20 A measuring electrode

21 Counter electrode

22 Detecting electrode

23 Reagent layer

24 Spacer

25 Notch

25a Sample supply route

26 An insulating substrate

27 Vent

---

[Translation done.]

\* NOTICES \*

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

DESCRIPTION OF DRAWINGS

---

[Brief Description of the Drawings]

[0046]

[Drawing 1]The figure showing the profile of the measuring method of this invention

[Drawing 2]The exploded perspective view of the biosensor in connection with this invention

[Drawing 3]The figure showing the relation of the parameter and sensitometry which were computed more in the measuring method of this invention

[Drawing 4]The figure showing the influence of Hct at the time of measuring using the measuring method of this invention, and the conventional technique

[Drawing 5]The figure showing the profile of the conventional measuring method

[Drawing 6]The figure showing the relation between Hct, measuring time, and sensitometry

---

[Translation done.]

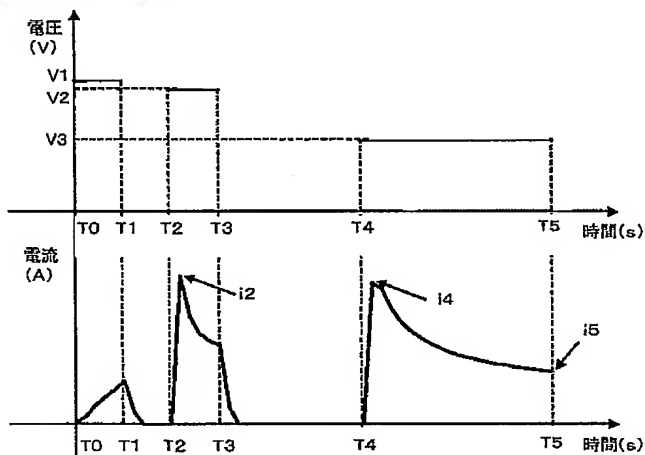
\* NOTICES \*

JP0 and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

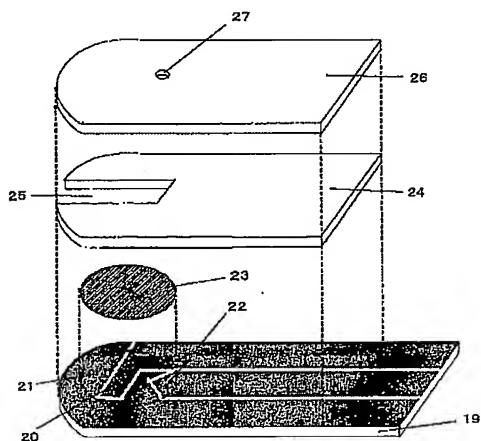
## DRAWINGS

[Drawing 1]



[Drawing 2]

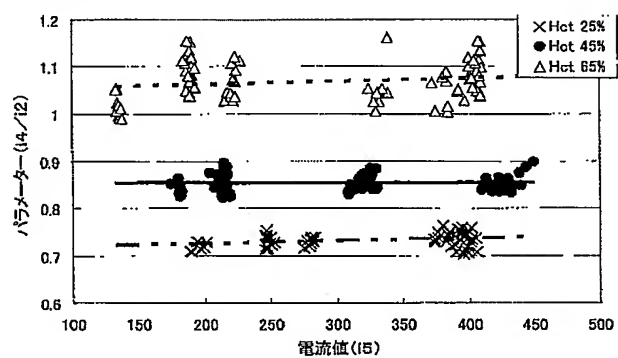
(a)



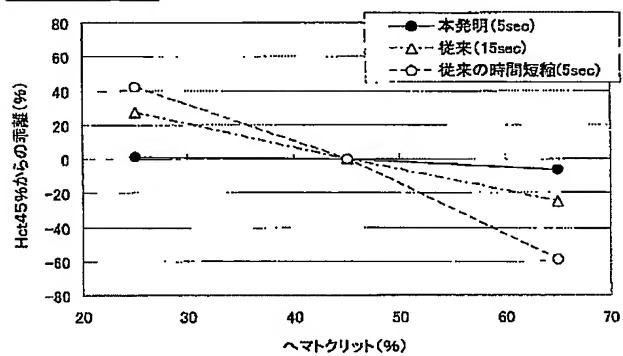
(b)



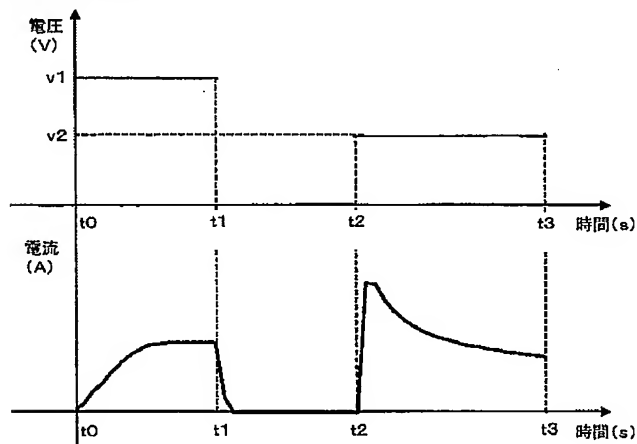
[Drawing 3]



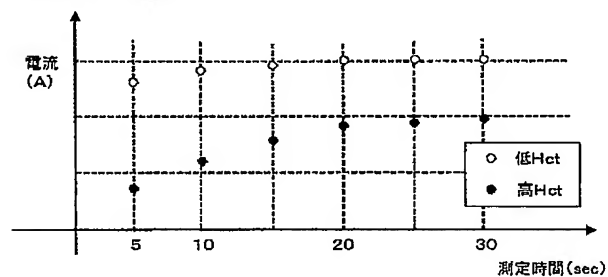
[Drawing 4]



[Drawing 5]



[Drawing 6]



---

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-147990

(P2005-147990A)

(43) 公開日 平成17年6月9日 (2005. 6. 9)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>

F 1

テーマコード (参考)

GO 1 N 27/327

GO 1 N 27/30 3 5 3 Z

GO 1 N 27/26

GO 1 N 27/26 3 7 1 A

GO 1 N 27/416

GO 1 N 27/30 3 5 3 R

GO 1 N 27/46 3 3 8

GO 1 N 27/46 3 3 6 B

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2003-389128 (P2003-389128)

(22) 出願日 平成15年11月19日 (2003. 11. 19)

(71) 出願人 000005821

松下電器産業株式会社

大阪府門真市大字門真1006番地

(74) 代理人 100097445

弁理士 岩橋 文雄

(74) 代理人 100103355

弁理士 坂口 智康

(74) 代理人 100109667

弁理士 内藤 浩樹

(72) 発明者 山西 永吏子

愛媛県温泉郡川内町南方2131番地1

松下寿電子工業株式会社内

(72) 発明者 徳永 博之

愛媛県温泉郡川内町南方2131番地1

松下寿電子工業株式会社内

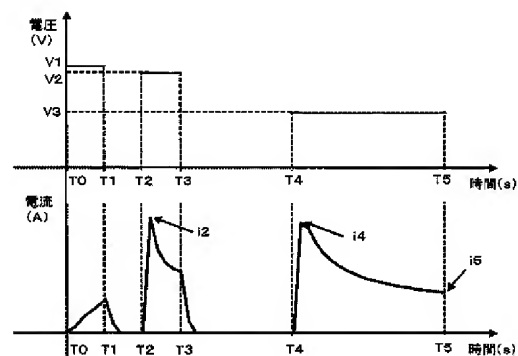
(54) 【発明の名称】 基質濃度の測定方法

(57) 【要約】

【課題】 血液に含まれる基質を定量するに際し、血液のHctによる測定誤差を減少させる為の測定方法を提供する。

【解決手段】 血液前処理のための電圧印加工程 (T0-T1)、データ補正のための電圧印加工程 (T2-T3)、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程 (T4-T5) を包含し、前記補正のための電圧印加工程より得られたピーク電流値 (i2) と、前記一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程より得られたピーク電流値 (i4) との比に基づいてヘマトクリットに依存したパラメータを算出し、前記パラメータにより基質量を補正する。

【選択図】 図1



**【特許請求の範囲】****【請求項1】**

絶縁基板上の少なくとも一部に形成された対電極、測定電極を含む電極部、当該電極部上または周辺に少なくとも酵素、電子伝達体を含む試薬層を有するバイオセンサと、当該電極部の各電極に電位を印加する為の接続端子及び駆動電源を有する測定装置を用い、当該駆動電源によって前記電極部に電位を印加させて出力される電流を検知し、血液に含まれる基質を定量する測定方法であって、断続的な3回以上の電圧印加工程を包含することを特徴とする基質濃度の測定方法。

**【請求項2】**

前記断続的な電圧印加工程が、少なくとも血液前処理のための電圧印加工程、データ補正のための電圧印加工程、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程を包含することを特徴とする、請求項1記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項3】**

前記電圧印加工程において、血液前処理のための電圧印加工程の後に、データ補正のための電圧印加工程が実施され、当該データ補正のための電圧印加工程の後に、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程が実施されることを特徴とする、請求項2記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項4】**

前記データ補正のための電圧印加工程より得られたピーク電流値と、前記一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程より得られたピーク電流値との比に基づいてヘマトクリットに依存したパラメータを算出し、前記パラメータにより基質量を補正することを特徴とする請求項2～3記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項5】**

前記パラメータを判別係数とする判別関数を用いてヘマトクリットを補正することを特徴とする請求項4記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項6】**

前記血液前処理のための電圧印加工程およびデータ補正のための電圧印加工程における印加電圧が、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程における印加電圧よりも大きいことを特徴とする請求項1～5記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項7】**

前記血液前処理のための電圧印加工程における電圧印加時間が0.2秒～2秒であることを特徴とする請求項1～6記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項8】**

前記データ補正のための電圧印加工程直前の開回路時間が0.2秒～1秒であることを特徴とする請求項1～7記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項9】**

前記データ補正のための電圧印加工程における電圧印加時間が0.2秒～2秒であることを特徴とする請求項1～8記載の基質濃度の測定方法。

**【請求項10】**

前記一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程直前の開回路時間が1秒～6秒であることを特徴とする請求項1～9記載の基質濃度の測定方法。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、血液に含まれる基質を定量するために、バイオセンサ及びこのバイオセンサが装着される測定装置を用いる測定方法に関するものであり、特に血液中のヘマトクリットによる測定誤差を減少させる為の新規な定量方法を提供するものである。

**【背景技術】****【0002】**

バイオセンサとは、微生物、酵素、抗体、DNA、RNA等の生物材料の分子認識能を



利用し、生物材料を分子識別素子として応用した、試料液中の基質含有量を定量するセンサである。即ち、生物材料が目的の基質を認識したときに起こる反応、例えば微生物の呼吸による酸素の消費、酵素反応、発光等、を利用して試料液中に含まれる基質を定量するのである。そして各種バイオセンサの中でも酵素センサの実用化は進んでおり、例えば、グルコース、乳酸、コレステロール、アミノ酸用のバイオセンサである酵素センサは医療計測や食品工業に利用されている。この酵素センサは、例えば検体である試料液に含まれる基質と酵素などの反応により生成する電子によって電子伝達体を還元し、測定装置がその電子伝達体の還元量を電気化学的に計測することにより、検体の定量分析を行うようになっている。

#### 【0003】

このようなバイオセンサを用いた測定方法について様々な形態のものが提案されている。そこで従来の測定方法について説明する。(例えば特許文献1参照。)試料液中の基質含有量を定量するには、バイオセンサを測定装置に挿入後、後述するバイオセンサの電極に測定装置によって一定電圧が印加された状態で、試料液を試料点着部に供給する。点着された試料液がバイオセンサの内部に吸引されて試薬層の溶解が始まる。測定装置はバイオセンサの電極間に生じる電気的変化を検知して定量動作を開始するようになっている。

#### 【0004】

試料液供給検知後のプロファイルを図5に示す。本プロファイルには三つの連続期間からなり、例えば時刻 $t_0$ から $t_1$ の第1印加期間、時刻 $t_1$ から $t_2$ の待機時間、時刻 $t_2$ から $t_3$ の第2印加期間からなる。この第1印加期間を設けることでヘマトクリットによる測定誤差を抑制することができる。

#### 【0005】

また、誤差影響を補正して分析対象物の濃度を求めるバイオセンサの測定方法について説明する。(例えば特許文献2参照。)バイオセンサに定められた電圧を2回印加して電気化学反応を促進させ、その結果得られる電流値から下記パラメータP1及びP2を算出し、これらのパラメータから統計的手法により誤差を補正して分析対象物濃度を算出する。P1:1回目励起における電流の最大値または最大値以降の電流値( $I_f$ )と2回目励起の任意の時点における電流値( $I_b$ )の比( $I_f/I_b$ )。P2:2回目励起の任意の時点における電流値( $I_b$ )。

【特許文献1】特開2003-156469号公報

【特許文献2】国際公開第99/60391号パンフレット

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

#### 【0006】

しかしながら従来の測定方法には、血液のヘマトクリットが測定感度に影響を及ぼすという問題があった。ヘマトクリットとは血液中に占める有形成分の体積比(%)である。一般的に貧血のない人では赤血球が40~50%を占める。慢性腎不全になり腎性貧血になるとヘマトクリットは下がり15%を下回る状態になる場合もあり、個人差、男女差も大きい。

#### 【0007】

一方、近年のバイオセンサに要求されるスペックとして測定時間の短縮化が望まれている。バイオセンサを用いて迅速に基質の測定を行う場合、試料の粘性がその測定精度に大きな影響を与える。特に、人体の血液を試料液とする場合、粘性の高い(Hctが高い:以下、高Hct)血液の場合は応答レベルが相対的に低下し、粘性の低い(Hctが低い:以下、低Hct)血液の場合は応答レベルが相対的に高くなり、この傾向は測定時間の短縮化が進むにつれ顕著になる場合がある。この現象は、試薬層の血液への溶解性、および溶存種の拡散速度がHctの影響を受けていることを示唆する。

#### 【0008】

図6は測定時間とヘマトクリットの関係を示す図である。これは、図5で示した特許文献1の測定手法に準じて測定を行った結果である。測定時間とは図5で示した $t_3$ であり

、低Hctおよび高Hctの血液を用いて測定した時のものにおける電流値をそれぞれプロットしたものである。図6から明らかなように、測定時間が短くなるとヘマトクリットの差異による電流値の差が大きくなることが分かる。とりわけ、測定時間が5秒程度の場合にはヘマトクリットの影響を大きく受ける。その為、特許文献1の測定法で時間短縮を行うことはヘマトクリットによる測定誤差が顕著となり、非常に困難であった。

【0009】

特許文献2に示される従来の測定方法は、1回目励起における電流の最大値または最大値以降の電流値と、2回目励起の任意の時点における電流値の比を試料物性による影響をより大きく受けるパラメータとして使用している。1回目励起は溶解初期の段階であることから、試薬層の血液への溶解性および溶存種の拡散速度が律速になり、ヘマトクリットに依存した電流値が得られやすいが、血液の供給速度、手技の差によって電流値がばらつきやすい。さらに血液に含まれる易酸化性物質が1回目励起の際に電流値として検出されやすく、血中易酸化性物質の個人差により1回目励起の電流値は誤差が生じやすい。また、1回目励起の電流の最大値または最大値以降の電流を補正に用いるためには、ある程度の印加時間が必要である。しかし初期段階（1回目励起）で長時間電位をかけると、還元性電子伝達体が過剰量酸化されるため、待機時間を長くして還元性電子伝達体を再び蓄積しなければ2回目励起期間で検知される応答値の基質依存性が悪くなる可能性がある。その為特許文献2の測定方法では、ばらつきを抑えた測定を行うこと、測定時間の短縮を行うことが非常に困難であった。

【課題を解決するための手段】

【0010】

前記従来の課題を解決するために、本発明の基質濃度の測定方法は、絶縁基板上の少なくとも一部に形成された対電極、測定電極を含む電極部、当該電極部上または周辺に少なくとも酵素、電子伝達体を含む試薬層を有するバイオセンサと、当該電極部の各電極に電位を印加する為の接続端子及び駆動電源を有する測定装置を用い、当該駆動電源によって前記電極部に電位を印加させて出力される電流を検知し、血液に含まれる基質を定量する測定方法であって、断続的な3回以上の電圧印加工程を包含する。

【0011】

また、前記断続的な電圧印加工程が、少なくとも血液前処理のための電圧印加工程、データ補正のための電圧印加工程、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程を包含してもよい。

【0012】

また、前記電圧印加工程において、血液前処理のための電圧印加工程の後に、データ補正のための電圧印加工程が実施され、当該データ補正のための電圧印加工程の後に、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程が実施されてもよい。

【0013】

また、前記データ補正のための電圧印加工程より得られたピーク電流値と、前記一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程より得られたピーク電流値との比に基づいてヘマトクリットに依存したパラメータを算出し、前記パラメータにより基質量を補正してもよい。

【0014】

また前記パラメータを判別係数とする判別関数を用いてヘマトクリットを補正してもよい。

【0015】

また、前記血液前処理のための電圧印加工程およびデータ補正のための電圧印加工程における印加電圧が、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程における印加電圧よりも大きいことを特徴とする測定方法としてもよい。

【0016】

また、前記血液前処理のための電圧印加工程における電圧印加時間が0.2秒～2秒で

あることを特徴とする測定方法としてもよい。

【0017】

また、前記データ補正のための電圧印加工程直前の開回路時間が0.2秒～1秒であることを特徴とする測定方法としてもよい。

【0018】

また、前記データ補正のための電圧印加工程における電圧印加時間が0.2秒～2秒であることを特徴とする測定方法としてもよい。

【0019】

また、前記一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程直前の開回路時間が1秒～6秒であることを特徴とする測定方法としてもよい。

【発明の効果】

【0020】

本発明の基質濃度の測定方法によれば、絶縁基板上の少なくとも一部に形成された対電極、測定電極を含む電極部、当該電極部上または周辺に少なくとも酵素、電子伝達体を含む試薬層を有するバイオセンサと、当該電極部の各電極に電位を印加する為の接続端子及び駆動電源を有する測定装置を用い、当該駆動電源によって前記電極部に電位を印加させて出力される電流を検知し、血液中に含まれる基質を定量する測定方法であって、血液前処理のための電圧印加工程、データ補正のための電圧印加工程、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程を包含し、前記補正のための電圧印加工程より得られたピーク電流値と、前記一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程より得られたピーク電流値との比に基づいてヘマトクリットに依存したパラメータを算出し、前記パラメータにより基質量を補正することで、測定精度の良好な測定方法を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0021】

以下に、本発明の基質濃度の測定方法の実施の形態を図面とともに詳細に説明する。

【0022】

(実施の形態1)

図1は、本発明の第1の実施例における基質濃度の測定方法のプロファイル図を示す。

【0023】

図1におけるプロファイルにおいて、血液が供給されたことを検知した時刻をT0とする。図1のプロファイルにおいては、5つの工程からなり、T0からT1を第1工程（血液前処理の為の電圧印加工程）、T1からT2を第2工程（開回路）、T2からT3を第3工程（データ補正のための電圧印加工程）、T3からT4を第4工程（開回路）、T4からT5を第5工程（一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程）とする。

【0024】

血液前処理のための第1工程では、溶解初期の段階で酵素反応の結果生成した還元型電子伝達体が酸化されると同時に、血液中に含まれる易酸化性物質が最初の電圧印加工程である第1工程で酸化される。

【0025】

次に第2工程を開回路にすることで、酵素反応により生成した還元型電子伝達体が蓄積されていく。

【0026】

データ補正のための第3工程では、第2工程の開回路時間を十分に持たせずに印加を開始するので、特に高Hctの血液になるほど、還元型電子伝達体を十分に蓄積できず、ピーク電流i2はヘマトクリットの影響を大きく受けた値となる。

【0027】

本発明においては、データ補正に使用する第3工程以外に血液前処理として第1工程を設けることで、血液の供給速度、手技の差によるばらつきや血中の還元性物質の影響を除

去することができ、ヘマトクリットの影響のみを受けたパラメータが第3工程で得られる。更にこの第1工程の存在により、血中の易酸化性物質の影響を軽減させた最終応答値を得ることが同時に可能となる。

【0028】

次に第4工程で再び開回路にし、再度、還元型電子伝達体を蓄積する。このとき、一定時間以上時間をとることで、高Hctの血液においても十分量の還元型電子伝達体が蓄積される。

【0029】

第5工程で電位V3を印加した際に得られるピーク電流i4は、見かけ上ヘマトクリットの影響が小さい値となる。その後基質濃度との最も依存性が高い電流値を示すi5の電流値を測定する。このi5を最終応答値とする。そして、ヘマトクリットの最終応答値に与える影響を低減させるため、データ補正のための第3工程で求めたi2を利用して、 $i4/i2$ のパラメータを算出し、応答値i5にこのパラメータを基に予め決めておいた補正を加える。

【0030】

本測定方法では、データ補正のための電圧印加工程の前の開回路時間T1～T2は使用する酵素の能力によって異なるが、0.2秒から1秒が好ましい。また、血液前処理のための電圧印加工程の時間T0～T1及びデータ補正のための電圧印加工程の時間T2～T3は使用する酵素の能力によって異なるが、0.2秒から2秒が好ましい。また、前記血液前処理のための電圧印加工程およびデータ補正のための電圧印加工程における印加電圧が、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程における印加電圧よりも大きいことが好ましい。さらに、電圧V2は0.1V～0.8Vが好ましい。また一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程直前の開回路時間は1秒～6秒であることが好ましい。

【0031】

また、データ補正のための電圧印加を数回行い、数回のデータ補正のための電圧印加で得られた複数の電流値を補正に用いることでさらに精度が向上する。その際の電圧は違う電圧を印加してもよい。

【0032】

また、前記データ補正の為の電圧印加工程、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程で得られた電流値を、上記特許文献2に示されたような方法で、判別係数とする判別関数を用いてヘマトクリットを補正してもよい。

【0033】

データ補正のための電圧印加工程ではヘマトクリットの影響を大きく受けた値が得られればどのポイントの電流値を用いても可能であるが、誤差の少ない補正を行う為にはその影響が顕著に出やすいピーク電流を用いることが、好ましい。

【実施例】

【0034】

本発明のより具体的な実施の形態について図面とともに詳細に説明する。以下の構成からなるバイオセンサをセンサの一例として用いた。

【0035】

図2(a)はバイオセンサの分解斜視図であり、図2(b)はバイオセンサの上面から見た電極部の構成を示す図である。19はポリエチレンテレフタレート等からなる絶縁性の基板(以下、「基板」とする。)であって、基板19の表面にはパラジウムからなる導体層がスパッタリングによって形成されている。26は中央部に空気孔27が設けられた絶縁性の基板であって、切欠部25を有するスペーサ24を基板19との間に挟みこんで基板19と一体に配置される。

【0036】

基板19上には、複数のスリットによって導体層が分割されて対電極21、測定電極20および検知極22が形成されている。

【0037】

スペーサ24は基板19上の対電極21、測定電極20および検知電極22を覆うように配置され、検体供給路25aが形成される。スペーサ24の切欠部25から露出している対電極21、測定電極20および検知電極22上に、酵素としてグルコースデヒドロゲナーゼ、電子伝達体としてフェリシアン化カリウム等を含有する試薬を塗布し試薬層23を形成させる。

【0038】

この酵素と電子伝達体が含まれる試薬層が検体供給路に吸引された血液に溶解し、血液中の基質であるグルコースとの間で酵素反応が進行し電子伝達体が還元されて還元型電子伝達体が生成される。この還元型電子伝達体を電気化学的に酸化し、このとき得られる電流値から血液中のグルコース濃度が測定される。このような一連の反応は、対電極21、測定電極20及び検知電極22によって電気化学的变化に伴う電流値を読み取る。

【0039】

図3はHctが25%（低Hct）、45%、65%（高Hct）の血液を用いて、本測定方法において算出したパラメータである。第1工程（血液前処理のための電圧印加）が0.5V印加で0.5秒、第2工程（開回路）が0.5秒、第3工程（データ補正のための印加）が0.5V印加で0.5秒、第4工程（開回路）が1.5秒、第5工程（一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加）が0.2V印加で2秒となっている。そして第3工程での電圧印加開始より0.1秒後の電流値*i*2と第5工程での電圧印加開始より0.1秒後の電流値*i*4を測定して算出した*i*4/*i*2が図3のパラメータとなる。横軸が第5工程での電圧印加開始より2秒後の最終応答値*i*5、縦軸が*i*4/*i*2である。ヘマトクリット値を判別することの困難な点は、低Hctの低基質濃度の血液と、高Hctの高基質濃度の血液と*i*5において、同じ電流値が得られる場合があることである。図5のパラメータを用いることによって、*i*5が同じ電流値を示す場合でもヘマトクリットごとに分別することができることが明らかである。

【0040】

図3で得られたパラメータの各数値に対する補正値を下記のテーブル1に示す。

【0041】

【表1】

| パラメータ : $Z = i_4 / i_2$ | 補正値  |
|-------------------------|------|
| $Z < 0.75$              | 0.8  |
| $0.75 \leq Z < 0.8$     | 0.9  |
| $0.8 \leq Z < 0.95$     | 1.0  |
| $0.95 \leq Z < 1.0$     | 1.1  |
| $1.0 \leq Z$            | 1.35 |

【0042】

このテーブルに従い、補正値を最終応答値*i*5に掛ける。

【0043】

図4は本発明の測定手法、従来の手法を用いて測定した際のヘマトクリットの影響を示す図である。従来の測定方法は、第1印加として0.5Vを6秒、待機時間を6秒、第2印加として0.2Vを3秒のトータル測定時間が15秒の場合と、第1印加として0.5Vを2秒、待機時間を2秒、第2印加として0.2Vを1秒のトータル測定時間を5秒に短縮した場合を示す。従来の測定方法は15秒から5秒に時間短縮を行うことによって、Hct25%の低Hct血液は測定結果が基準のHct45%比べて相対的に高く、Hct65%の高Hct血液は相対的に低くなる。

【0044】

本測定方法を用いることによって、トータルの測定時間は等しいにも関わらず、ヘマトクリットのバラツキを低減することが可能になる。

【産業上の利用可能性】

【0045】

本発明にかかるバイオセンサの測定方法は、絶縁基板上の少なくとも一部に形成された対電極、測定電極を含む電極部、当該電極部上または周辺に少なくとも酵素、電子伝達体を含む試薬層を有するバイオセンサと、当該電極部の各電極に電位を印加する為の接続端子及び駆動電源を有する測定装置を用い、当該駆動電源によって前記電極部に電位を印加させて出力される電流を検知し、血液中に含まれる基質を定量する測定方法であって、血液前処理のための電圧印加工程、データ補正のための電圧印加工程、一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程を包含し、前記補正のための電圧印加工程より得られたピーク電流値と、前記一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程より得られたピーク電流値との比に基づいてヘマトクリットに依存したパラメータを算出し、前記パラメータにより基質量を補正することで、血液中に含まれる基質濃度を定量するバイオセンサの測定精度の良好な測定方法等として有用である。

【図面の簡単な説明】

【0046】

【図1】本発明の測定方法のプロファイルを示す図

【図2】本発明に関わるバイオセンサの分解斜視図

【図3】本発明の測定方法をより算出されたパラメータと測定感度の関係を示す図

【図4】本発明の測定方法、従来の手法を用いて測定した場合のH c tの影響を示す図

【図5】従来の測定方法のプロファイルを示す図

【図6】H c t、測定時間および測定感度の関係を示す図

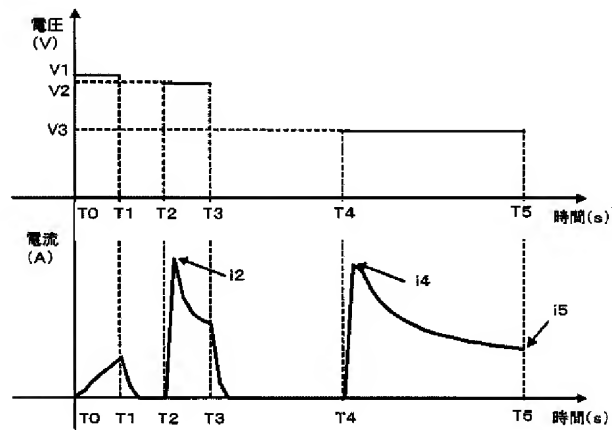
【符号の説明】

【0047】

- 1 t 0 従来の測定方法における血液が供給された時間
- 2 t 1 従来の測定方法における第1印加期間が終了し開回路が開始される時間
- 3 t 2 従来の測定方法における第2印加期間が開始される時間
- 4 t 3 従来の測定方法における最終応答値として電流値を読み取る時間
- 5 v 1 従来の測定方法における第1印加期間の電圧
- 6 v 2 従来の測定方法における第2印加期間の電圧
- 7 T 0 本発明の測定方法における血液が供給された時間
- 8 T 1 本発明の測定方法における血液前処理のための電圧印加工程が終了する時間
- 9 T 2 本発明の測定方法におけるデータ補正のための電圧印加工程が開始する時間
- 10 T 3 本発明の測定方法におけるデータ補正のための電圧印加工程が終了する時間
- 11 T 4 本発明の測定方法における一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程が開始する時間
- 12 T 5 本発明の測定方法における最終応答値として電流値を読み取る時間
- 13 V 1 本発明の測定方法における血液前処理のための印加電圧
- 14 V 2 本発明の測定方法におけるデータ補正のための印加電圧
- 15 V 3 本発明の測定方法における一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための印加電圧
- 16 i 2 本発明の測定方法における血液前処理のための電圧印加工程で得られるピーク電流
- 17 i 4 本発明の測定方法における一定時間経過後に生成した還元型電子伝達体を酸化するための電圧印加工程で得られるピーク電流

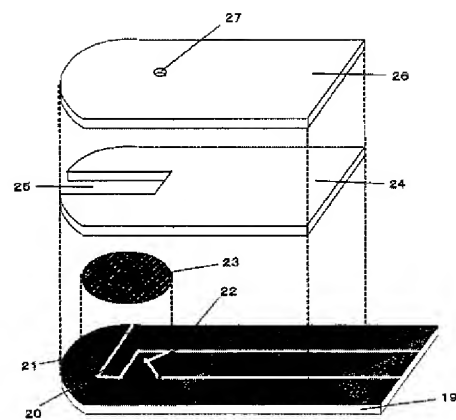
- 18 i 5 本発明の測定方法における最終応答値  
 19 絶縁性の基板  
 20 測定電極  
 21 対極  
 22 検知電極  
 23 試薬層  
 24 スペーサ  
 25 切欠部  
 25 a 検体供給路  
 26 絶縁性の基板  
 27 空気孔

【図1】



【図2】

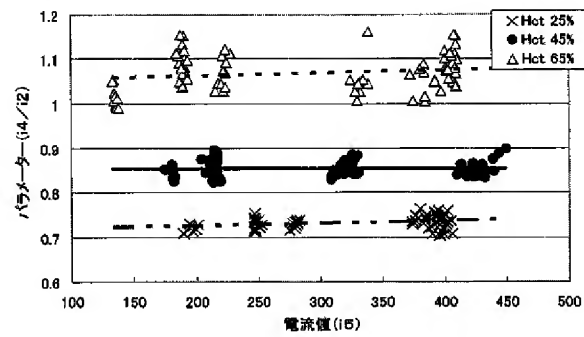
(a)



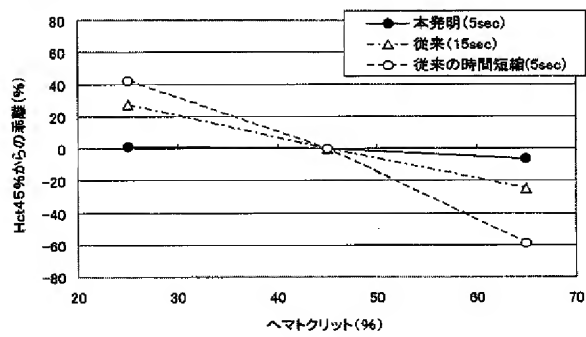
(b)



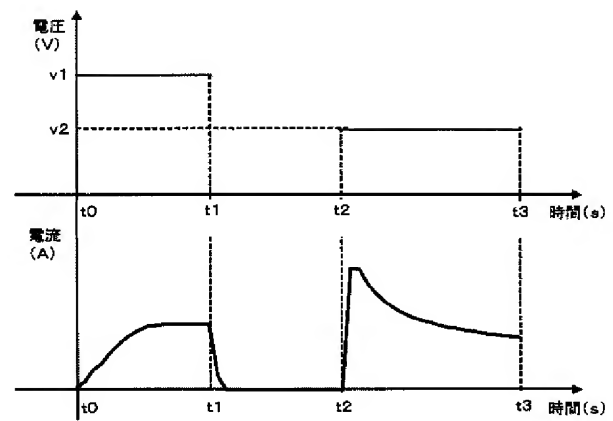
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

